Sistema de pruebas MMV IgG Plus

IVD

REF A93111G

USO PREVISTO

El sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte®** MMV IgG Plus de ZEUS está diseñado para la detección presunta cualitativa de anticuerpos de tipo IgG en sarampión (rubeola), paperas, y virus de la varicela-zóster (VZ) en suero humano utilizando el sistema AtheNA Multi-Lyte®. La prueba está diseñada para determinar una infección previa de sarampión, paperas, virus de VZ y determinar el estado serológico de los individuos, incluidas las mujeres en edad fértil. Las características de la ejecución del ensayo aún no se han establecido para pacientes inmunocomprometidos o inmunosuprimidos, sangre de cordón umbilical, muestras neonatos, niños de corta edad o niños. Esta prueba está concebida exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro*.

IMPORTANCIA Y ASPECTOS GENERALES

El **sarampión** es una enfermedad viral altamente contagiosa resultante de una infección por paramixovirus (género *Morbillivirus*). De ocho a 12 días después de la infección, se inicia la fase con un cuadro prodrómico del sarampión marcado por fiebre, tos, coriza y posiblemente conjuntivitis. En muchos casos, el inicio de los síntomas prodrómicos va seguido (en dos o tres días) por la aparición de un enantema específico (manchas de Koplik) y una erupción maculopapular generalizada (entre tres y cuatro días después del inicio) (1). En el sarampión sin complicaciones, la aparición del salpullido viene seguido por un pico en temperatura uno o dos días después, y una rápida efervescencia en el tercer o cuarto día del salpullido.

En circunstancias normales, la aparición de los síntomas prodrómicos, particularmente las manchas de Koplik, que son muy específicas y patognomónicas, es suficiente para un diagnóstico clínico. Sin embargo, la incidencia del sarampión ha disminuido de forma espectacular desde la introducción de la vacuna correspondiente en 1963 (2). En consecuencia, los profesionales médicos tienen ahora menos experiencia en el diagnóstico clínico de la enfermedad y pueden requerir la ayuda del laboratorio para su confirmación.

El diagnóstico del sarampión se puede complicar aún más por la aparición de una forma atípica en personas que estaban inmunizadas con una vacuna de sarampión desactivado entre 1963 y 1967, y fueron subsecuentemente reinfectados por un tipo salvaje de este virus (3). La forma atípica de sarampión puede ser grave y se puede confundir clínicamente por la fiebre maculosa de las Montañas Rocosas. Además, el sarampión agudo puede verse complicado por infecciones bacterianas secundarias del tracto respiratorio y del oído intermedio. Entre las complicaciones adicionales se incluye una encefalitis posinfecciosa y una enfermedad rara pero con frecuencia fatal, panencefalitis esclerosante subaguda (SSPE) (1).

Los anticuerpos contra el virus del sarampión comienzan a aparecer con el desarrollo de la erupción. Es posible que aparezca una respuesta transitoria mediante anticuerpos de tipo IgM (entre tres y seis semanas) en primer lugar, o de forma conjunta con IgG. Los anticuerpos de tipo IgG alcanzan un pico entre dos y seis semanas, disminuyen gradualmente durante seis meses y permanecen relativamente estables a partir de ese momento. Después de la administración de la vacuna del sarampión de virus vivos atenuados, se puede detectar el anticuerpo 11-14 días después de su inoculación (1). Se pueden producir reinfecciones subclínicas en personas que tienen una inmunidad inducida por vacuna o natural, que da lugar a un refuerzo del título de IgG específico del sarampión (1). Aunque el programa de vacunas está muy extendido, hay muchos individuos que continúan siendo susceptibles al sarampión a causa de un fallo en la vacuna primaria o por falta de inmunización. La serología es una herramienta útil para verificar el estado de inmunidad en individuos que han recibido la vacuna anteriormente, así como para verificar la seroconversión en individuos que han recibido la vacuna recientemente. Además, la serología del sarampión puede ser una herramienta útil para el diagnóstico de la SSPE, que puede aparecer años después de la infección de sarampión original (3).

Las **paperas** son una enfermedad aguda, generalmente autolimitada y contagiosa, con fiebre moderada de corta duración. La característica clínica más común es una parotiditis bilateral o unilateral. De forma secundaria, también pueden resultar afectados los testículos, los ovarios, el sistema nervioso central y, con menor probabilidad, el páncreas, los nervios periféricos, los ojos, el oído interno y otros órganos (4).

El periodo de incubación del virus de las paperas es de 18 a 21 días. Las infecciones se propagan a través de gotitas por la vía respiratoria superior. Entre el 25 y el 50 por ciento de todas las infecciones son silentes. Tras la infección, la inmunidad parece ser vitalicia; no obstante, pueden producirse reinfecciones silentes, aunque no es frecuente que esto suceda. Existe una vacuna de virus vivo atenuado que induce unos niveles de anticuerpos medibles inferiores a la infección natural (4, 5). Tan sólo se conoce un tipo antigénico diferenciado de virus de las paperas. En algunas pruebas serológicas se ha detectado reactividad cruzada antigénica y respuestas a anticuerpos anamnésicos con otros paramixovirus, como el de la parainfluenza tipo 1 (4, 5 y 6).

Se han descrito muchas pruebas para la determinación de anticuerpos contra el virus de las paperas. Los ensayos tradicionales por neutralización viral, inhibición de la hemaglutinación (IH) o fijación del complemento (FC) tienen el inconveniente de ser demasiado laboriosos para tareas serológicas rutinarias, y además no cuentan con la sensibilidad y la fiabilidad deseables. Tanto la FC como la IH presentan una sensibilidad relativamente baja, y los anticuerpos con reactividad cruzada frente a otros paramixovirus pueden representar un problema (4, 5). Las pruebas IFA y ELISA ofrecen la ventaja de ser sensibles y permitir la identificación por separado de los anticuerpos virales de tipo IgG e IgM tanto para la determinación del estado inmune como para el diagnóstico de la infección aguda (4, 5).

El virus de la **varicela-zóster** (VZV) es un patógeno común en los humanos. La evolución clínica del VZV en humanos se suele clasificar como varicela y *Herpes zoster* (culebrilla). El adelanto más importante en la comprensión de la naturaleza de estos agentes fue la contribución original de Weller y sus compañeros de trabajo, quienes demostraron el método de aislamiento y propagación en serie del virus (7, 8) y más recientemente, la epidemiología y control del virus (9). Se demostró que los aislamientos de virus obtenidos de pacientes con varicela y zóster eran idénticos según el efecto citopático (26), la antigenicidad (8) y la morfología (10, 11). Más recientemente, se ha demostrado que estos virus tienen un peso molecular del ADN (12) y patrones de endonucleasa de restricción (13) idénticos.

Los síntomas clínicos de la varicela primaria incluyen un periodo prodrómico de dolores de cabeza, malestar y fiebre antes de la aparición del exantema o las erupciones características, que pueden ser el primer síntoma. El sarpullido es pleomorfo y evoluciona de macular a papular, antes de pasar a la fase vesicular, El sarpullido desarrolla típicamente series sucesivas de nuevas lesiones en un período de 3 a 5 días.

Normalmente, la varicela afecta niños que se encuentran en educación general básica. Los adultos, adolescentes y recién nacidos son susceptibles a la infección. La enfermedad aparece típicamente en invierno o primavera, y puede alcanzar niveles epidémicos en poblaciones susceptibles. Se determinó que las infecciones de varicela durante el inicio del embarazo raramente causan anomalías congénitas. Las infecciones de varicela que se producen en mujeres embarazadas susceptibles en el momento del parto pueden comportar una infección en el recién nacido que puede amenazar su vida, así como a los pacientes en toda una variedad de patologías (14,15 y 16). No es rara la propagación potencial de una enfermedad nosocomial.

El *Herpes zoster* (culebrilla) es una enfermedad que aparece principalmente en adultos; en la mayoría de los casos se produce en individuos mayores de 50 años. A diferencia de la naturaleza epidémica y temporal de la infección por varicela, el *Herpes zoster* muestra un patrón aleatorio. Se cree que el *Herpes zoster* es la reactivación de un virus de varicela ya existente que ha estado en estado latente desde la infección primaria por varicela. Las personas afectadas por infecciones por *Herpes zoster* se comportan así incluso en presencia de anticuerpos previamente existentes contra el virus de la varicela. Los síntomas de *Herpes zoster* son zonas eritematosas y maculopapulares que aparecen en una superficie cutánea inervada por el mismo nervio aferente. A continuación aparecen vesículas individuales o arracimadas, generalmente acompañadas por dolor, que en algunos casos puede ser extremo (17).

Según los datos epidemiológicos de la diseminación del VZV a través de los núcleos de gotículas o gotículas de aire y, posiblemente, por la descamación cutánea, se cree que la puerta de entrada del virus reside en las vías respiratorias (18). Después de la diseminación del VZV desde la sangre, se difunde rápidamente hacia la piel y es detectable en el epitelio, y después afecta a las células de la epidermis con acumulación de líquidos entre la capa de células espinosas y la epidermis externa,

formando una vesícula (19). La vesícula se convierte en el centro de una actividad inmunológica intensa con un infiltrado inicial de leucocitos polimorfonucleares que son la célula inflamatoria predominante que se observa en el *Herpes zoster* (20). Más adelante, las células mononucleadas migran hacia la vesícula.

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

El sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus de ZEUS está diseñado para detectar los anticuerpos de clase IgG en suero humano ante sarampión (rubeola), paperas y VZV. El procedimiento de la prueba comprende dos pasos de incubación:

1. Los sueros de prueba (diluidos correctamente) se incuban en una mezcla multiplexada de la suspensión de microesferas. La suspensión de microesferas contiene una mezcla de conjuntos distinguibles de microesferas de poliestireno. En este caso, hay tres conjuntos de microesferas primarios: el sarampión, las paperasy el VZV. Si está presente en los sueros del paciente, determinados anticuerpos se unirán con el antígeno inmovilizado en uno o más conjuntos de microesferas. Las microesferas se enjuagan para extraer las proteínas séricas no reactivas.
2. Se agrega anti-IgG humana de cabra conjugada con ficoeritrina al recipiente y se incuba la placa. El conjugado reaccionará con el anticuerpo de tipo IgG inmovilizado en la fase sólida del paso 1. La suspensión de microesferas se analiza después con el instrumento **AtheNA Multi-Lyte**. El conjunto o conjunto de microesferas se clasifican (identifican) y la cantidad de molécula informante (conjugado PE) se determina para cada conjunto de microesferas. Con la *Intra-Well Calibration Technology*® (tecnología de calibración dentro del pocillo), se utilizan conjuntos de microesferas de calibración para convertir fluorescencia sin procesar en resultado (unidades).

COMPONENTES DEL SISTEMA DE PRUEBAS

Materiales suministrados:

Cada sistema de pruebas contiene los siguientes componentes en cantidad suficiente para realizar el número de pruebas indicado en la etiqueta del envase. **NOTA: los siguientes componentes contienen como conservante azida de sodio a una concentración de <0,1 % (p/v): suspensión de microesferas, controles, conjugado y SAVe Diluent®.**

SOLN	BEAD

1. Suspensión de microesferas: contiene microesferas de poliestireno de 5,6 micras separadas y distinguibles que se conjugan con el antígeno del virus del sarampión (cepa purificada parcialmente procedente de las células vero), el antígeno de las paperas (cepa ROD purificada parcialmente procedente de las células vero) y el antígeno del VZV (cepa ROD purificada parcialmente procedente de las células vero). La suspensión de microesferas también contiene un conjunto de microesferas diseñadas para detectar anticuerpos no específicos en la muestra del paciente (si está presente) y cuatro conjuntos de microesferas separadas que se utilizan para la calibración del ensayo. Una botella ámbar que contiene 5,5 ml. Listo para usar.

CONJ

2. Conjugado: anti-IgG humana (específica de la cadena γ) de cabra conjugada con ficoeritrina. Una botella ámbar que contiene 15 ml. Listo para usar.

CONTROL	+

3. Control positivo (suero humano): Un vial de 0,2 ml con tapón rojo.

CONTROL	-

4. Control negativo (suero humano): Un vial de 0,2 ml con tapón verde.

DIL	SPE

5. Diluyente SAVe Diluent®: Una botella de 50 ml con tapón verde de solución salina tamponada con fosfato. Listo para usar. **NOTA: El diluyente SAVe Diluent® cambiará de color cuando se combine con suero.**

WASHBUF	10X

6. Tampón de lavado concentrado (10X): diluir 1 parte del concentrado + 9 partes de agua desionizada o destilada. Una botella de 50 ml con tapón transparente de solución salina tamponada con fosfato concentrada 10x.

NOTAS:

1. **Los siguientes componentes no dependen del número de lote del sistema de pruebas y se pueden usar indistintamente con cualquier sistema de pruebas AtheNA Multi-Lyte de ZEUS: Tampón de lavado y diluyente SAVe Diluent®**
2. **El sistema de pruebas también contiene:**
   a. **Una etiqueta de componentes que contiene información específica de lote dentro de la caja del sistema de pruebas.**
   b. **CD de calibración que incluye los valores de calibración del kit específicos de los lotes y necesarios para el análisis de la muestra y el control de calidad del ensayo, así como el prospecto.**
   c. **Una placa de disolución de 96 pocillos.**
   d. **Una placa de filtro de 96 pocillos.**

PRECAUCIONES

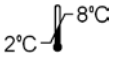
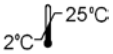
1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Se deben seguir las precauciones normales que se utilizan para manipular reactivos de laboratorio. En caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con abundante agua y busque asistencia médica. Utilice ropa de protección adecuada, guantes y protección para la cara/ojos. No respire los vapores. Respete todas las leyes locales, regionales y nacionales para la eliminación de residuos.
3. La suspensión de microesferas **AtheNA Multi-Lyte** no contiene organismos viables. No obstante, las tirillas deben considerarse como **materiales biológicos potencialmente peligrosos**, y deben manipularse como tal.
4. Los controles son **material con potencial riesgo biológico**. Los materiales a partir de los cuales se obtuvieron estos productos resultaron negativos para el antígeno del VIH-1, el HBsAg y para anticuerpos contra el VHC y el VIH por métodos de prueba homologados. Sin embargo, dado que ningún método de prueba puede ofrecer una garantía total de que no hay agentes infecciosos, estos productos deberán manipularse con un Nivel de bioseguridad 2, tal como se recomienda para cualquier muestra de sangre o suero humano potencialmente infeccioso en el manual de Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos) de los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de la Salud: última edición; y en la Norma de la OSHA sobre Patógenos que se transmiten en la sangre (21, 22).
5. Para lograr resultados precisos, es esencial cumplir estrictamente los tiempos y temperaturas de incubación especificados. **Se debe dejar que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (20 - 25°C) antes de empezar el ensayo.** Devuelva los reactivos no utilizados a una temperatura refrigerada inmediatamente después de su uso.
6. Un lavado inadecuado podría ocasionar resultados de falsos positivos o falsos negativos. Debe reducirse al mínimo la cantidad de solución de lavado residual (p. ej., mediante secado o aspiración) antes de añadir el conjugado. No permita que los pocillos se sequen entre una incubación y la siguiente.
7. El diluyente SAVe Diluent®, la suspensión de microesferas, los controles y el conjugado contienen azida sódica en una concentración de <0,1 % (p/v). Se ha informado que la azida sódica forma azidas de plomo o cobre en las cañerías del laboratorio, lo que puede ocasionar explosiones al golpear con un martillo. Para evitarlo, enjuague bien el lavabo con agua después de eliminar las soluciones que contengan azida de sodio.
8. La solución concentrada del tampón de lavado es IRRITANTE. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
9. La dilución o adulteración de estos reactivos puede generar resultados erróneos.
10. No utilice reactivos de otro origen o fabricante.
11. Nunca pipetee con la boca. Evite el contacto de los reactivos y las muestras de pacientes con la piel y las membranas mucosas.
12. Evite la contaminación microbiana de los reactivos. Esto puede ocasionar resultados incorrectos.
13. La contaminación cruzada de reactivos y/o muestras podría ocasionar resultados erróneos.
14. Evite salpicar o generar aerosoles.
15. No exponga los reactivos a la luz intensa durante el almacenamiento o la incubación. La suspensión de microesferas y el conjugado son reactivos sensibles a la luz. Ambos se han embalado en envases que protegen de la luz. Las exposiciones normales que se experimentan durante el curso de la ejecución del ensayo no afectarán en rendimiento del ensayo. No exponga estos reactivos a fuentes potentes de luz visible de manera innecesaria.

16. Recoja la solución de lavado en un lavabo de eliminación. Trate la solución de desecho con desinfectante (es decir: lejía de uso doméstico al 10 %, hipoclorito de sodio al 0,5 %). Evite la exposición de los reactivos a los vapores de la lejía.
17. Precaución: neutralice cualquier desecho líquido con pH ácido antes de agregarlo a la solución de lejía.
18. No permita que el conjugado entre en contacto con recipientes o instrumentos que hayan podido contener previamente una solución que utilice azida de sodio como conservante. Los residuos de azida de sodio pueden destruir la actividad enzimática del conjugado.
19. No exponga ninguno de los reactivos a soluciones que contengan lejía o a ningún olor fuerte de soluciones que contengan lejía. Los restos de lejía (hipoclorito de sodio), incluso a nivel de trazas, pueden destruir la actividad biológica de muchos de los reactivos incluidos en este sistema de pruebas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Pipetas capaces de dispensar con exactitud entre 10 y 200 µl.
2. Pipeta multicanal capaz de dispensar con exactitud 10 - 200 µl.
3. Depósitos de reactivos para pipetas multicanal.
4. Pipetas serológicas.
5. Puntas de pipetas descartables.
6. Toallas de papel.
7. Cronómetro de laboratorio para controlar los pasos de incubación.
8. Recipiente para desechos y desinfectante (es decir: lejía de uso doméstico al 10 %, hipoclorito de sodio al 0,5 %).
9. Sistema **AtheNA Multi-Lyte** (instrumento Luminex®) con fluido envolvente (número de producto 40-50000).
10. Agua destilada o desionizada.
11. Vórtex.
12. Sonicador de baño pequeño.
13. Agitador de placas capaz de agitar a una velocidad de 800 RPM (opcional para el mezclado).
14. Aspirador de vacío y colector de vacío para lavar las microesferas.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

	Suspensión de microesferas: Extraiga solo la cantidad necesaria para analizar las muestras a las que se les va a realizar la prueba y devuelva la porción no utilizada a su almacenamiento.
	Conjugado: NO CONGELAR.
	Sistema de pruebas, control positivo, control negativo y diluyente SAVe Diluent®
	Tampón de lavado (1X): hasta 7 días entre 20 y 25 °C o durante 30 días entre 2 y 8 °C. Tampón de lavado (10X): 2 - 25°C

RECOGIDA DE LAS MUESTRAS

1. ZEUS Scientific recomienda que el usuario realice la recogida de muestras conforme al documento M29 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI): Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease (Protección de los trabajadores de laboratorio frente a las enfermedades infecciosas, Edición actual) (23)).
2. Ningún método de prueba puede ofrecer una garantía completa de que las muestras de sangre humana no transmitirán infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre deben considerarse potencialmente infecciosos.
3. Con este ensayo solamente deben utilizarse sueros recién extraídos y debidamente refrigerados que se hayan obtenido mediante procedimientos homologados de venopunción aséptica. No los utilice si se han agregado anticoagulantes o conservantes. Evite utilizar sueros hemolizados, lipémicos o contaminados con bacterias.
4. Almacene la muestra a temperatura ambiente durante un lapso no superior a las 8 horas. Si la prueba no se realiza dentro de las 8 horas, el suero puede almacenarse a entre 2 - 8° C, durante un lapso no superior a las 48 horas. Si tiene previsto retrasar la realización de la prueba, conserve los sueros de la prueba a –20 °C o a temperaturas inferiores. Evite múltiples ciclos de congelación/descongelación que puedan ocasionar la pérdida de actividad de los anticuerpos y dar lugar a resultados erróneos. Es responsabilidad del propio laboratorio utilizar todas las referencias disponibles y/o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad de su laboratorio (26).

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Retire los componentes individuales del kit del lugar de almacenamiento y permita que alcancen la temperatura ambiente (20 - 25°C).
2. Determine el número total de controles y muestras que se desean probar. Es necesario incluir el Control Negativo y el Control Positivo con cada tanda de pruebas. El Control Negativo se debe probar en el pocillo A1, y el Control Positivo en el pocillo B1. Cada Control y muestra necesita un micropocillo para su procesamiento.
   a. Para optimizar los tiempos de lectura, la suspensión de microesferas debe estar bien mezclada antes de su empleo. La manera más efectiva de volver a suspender las microesferas es en primer lugar utilizar el vórtex durante aproximadamente 30 segundos, y después sonicar durante aproximadamente 30 segundos en un sonicador de baño pequeño.
   b. Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que el contenido del ensayo se mezcle detenidamente. Entre los medios adecuados de mezcla se incluye mezclar la placa en un agitador de placa durante aproximadamente 30 segundos a 800 RPM aproximadamente, o ajustar una pipeta en aproximadamente ½ del volumen en la placa y aspirar y expulsar repetidamente (bomba arriba y bomba abajo) el contenido del pocillo durante un mínimo de 5 ciclos.

EJEMPLO DE CONFIGURACIÓN DE LA PLACA

	1	2
A	Control negativo	etc.
B	Control positivo	
C	Paciente 1	
D	Paciente 2	
E	Paciente 3	
F	Paciente 4	
G	Paciente 5	
H	Paciente 6	

3. Prepare una dilución 1:21 (por ejemplo: 10 µl de suero + 200 µl de diluyente SAVe Diluent®) del control negativo, del calibrador, del control positivo y de cada suero de paciente. **NOTA: El diluyente SAVe Diluent® sufrirá un cambio de color, lo cual confirma que la muestra se ha combinado con el diluyente.** Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que las disoluciones de la muestra se mezclen detenidamente conforme al punto 2b de arriba.
4. Después de determinar el número total de pocillos a procesar, utilice una pipeta multicanal o repetidora para dispensar 50 µL de suspensión de microesferas dentro de cada uno de los pocillos de la placa de filtración.

5. Transfiera 10 µL de cada muestra diluida (1:21) y el control de la placa de disolución a la placa de filtración. Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que la disolución de muestra y la suspensión de microesferas se mezclen detenidamente conforme al punto 2b de arriba.
6. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25°C) durante 30 ± 10 minutos.
7. Después de la incubación, enjuague las microesferas mediante filtrado al vacío usando el tampón de lavado que se suministra diluido en la concentración 1x.
   a. Coloque la placa de filtración sobre el colector de vacío y extraiga la solución, dejando las microesferas detrás.
   b. Apague el vacío y añada 200 µL de tampón de lavado.
   c. Aplique el vacío y extraiga la solución.
   d. Repita los pasos 7b y 7c para un total de tres enjuagues.
8. A continuación del lavado final, secar suavemente el fondo de la placa y permitir que la placa se seque al aire durante 3-5 minutos antes de continuar con el siguiente paso.
9. Agregue 150 µl de conjugado a cada micropocillo en el mismo orden en que se agregaron las muestras. Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que el conjugado y la suspensión de microesferas se mezclen detenidamente conforme al punto 2b de arriba. Mientras mezcla el conjugado tiene la opción de transferir la mezcla a pocillos vacíos de una placa de reacción de poliestireno.
10. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25°C) durante 30 ± 10 minutos.
11. Instale el instrumento **AtheNA Multi-Lyte** para analizar las reacciones. Para ello, seleccione la plantilla MMV IgG Plus. Consulte el manual del operador para obtener detalles relacionados con el funcionamiento del instrumento **AtheNA Multi-Lyte**. Los resultados se pueden leer en la placa del filtro o en una placa de reacción. **NOTA: Para obtener un análisis adecuado de la muestra, es importante que el instrumento se instale, calibre y mantenga de acuerdo con las instrucciones del fabricante.** Consulte el manual del instrumento para obtener información sobre la preparación del instrumento antes de leer los resultados del ensayo.
12. Tras finalizar la incubación del conjugado tiene 60 minutos para leer la placa. Tiene la opción de agitar la placa durante unos 15 segundos antes de la lectura. Este paso opcional puede reducir la cantidad de tiempo necesario para leer la placa.

Paso	Procedimiento de prueba abreviado
1	Diluya las muestras al 1:21 en diluyente SAVe Diluent®. Mezcle bien.
2	Combine 50 µL de suspensión de microesferas y 10 µL de muestra diluida en un pocillo vacío. Mezcle bien.
3	Incube a temperatura ambiente durante 30 ± 10 minutos.
4	Enjuague las microesferas 3 veces con 200 µL de Tampón de Lavado (1x).
5	Seque suavemente el fondo de la placa y secar con aire durante 3-5 minutos.
6	Agregue 150 µL de conjugado en cada pocillo. Mezcle bien.
7	Transfiéralo a una placa de reacción (opcional).
8	Incube a temperatura ambiente durante 30 ± 10 minutos
9	Agite la placa (opcional).
10	Lea los resultados en un periodo de 60 minutos.

CONTROL DE CALIDAD

1. Cada vez que se realiza el ensayo, es necesario incluir el Control Negativo (en el pocillo A1) y el Control Positivo (en el pocillo B1).
2. La validez de la tirada se determina mediante la realización de los controles positivos y negativos. Estos criterios se analizan automáticamente con la tecnología *Intra-Well Calibration Technology*.
   a. El Control negativo y el Control positivo deben ser todos negativos en la microesfera no específica o de antígeno de control.
   b. El control negativo debe ser negativo para todos y cada uno de los analitos incluidos en la suspensión de microesferas.
   c. El Control Positivo debe ser positivo para los tres analitos que se incluyen en la suspensión de microesferas. Estos rangos dependen de lote y están codificados dentro del CD de Calibración. Los rangos del PC se pueden ver haciendo clic sobre el botón "Gráfico de Control" del software **AtheNA Multi-Lyte** y después haciendo clic sobre "Límites superiores/inferiores de control".
   d. Si no se cumple ninguno de los criterios anteriores, toda la tirada se considerará como no válida y se tendrá que repetir. **En este caso, no comunique los resultados del paciente.**
3. La validez de la muestra se basa en las características de las microesferas y sus interacciones con los sueros de los pacientes. Hay varios parámetros que se supervisan automáticamente con la tecnología *Intra-Well Calibration Technology*. Si se determina que cualquiera de los criterios no cumple las especificaciones, los resultados del paciente se considerarán como no válidos y deberán repetirse. En caso de que esto se produzca, el informe de datos indicará la muestra en particular que se invalidó y el código de solución de problemas. Si una muestra tiene resultados no válidos en repetidas ocasiones, esta se debe probar utilizando una metodología alternativa ya que es incompatible con el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** Plus.
4. Es posible analizar controles adicionales siguiendo las directrices o los requisitos de las normativas locales, regionales o nacionales, o de las organizaciones acreditadas. Los controles externos deben ser representativos del suero humano normal debido a que el sistema de calibración **AtheNA Multi-Lyte** se basa parcialmente en las características de la muestra de suero. Si la formulación de la muestra es artificial (no es suero humano), se pueden producir resultados erróneos.
5. Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan el uso de controles positivos y negativos para asegurar la funcionalidad de los reactivos y la ejecución adecuada del procedimiento del ensayo. Los requisitos de control de calidad se deben realizar en total cumplimiento con las normativas locales, autonómicas o estatales, o con los requisitos de acreditación y los procedimientos de control de Calidad normativos del laboratorio del usuario. Se recomienda que el usuario consulte CLSI EP12-A y 42 CFR 493.1256 para obtener información de ayuda sobre las prácticas de CC adecuadas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. **Cálculos**
   a. Calibración del ensayo: El sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus de ZEUS utiliza la *Intra-Well Calibration Technology*. La tecnología *Intra-Well Calibration Technology* incluye una curva estándar con múltiples puntos dentro de la suspensión de microesferas. Con la tecnología *Intra-Well Calibration Technology*, cada pocillo del ensayo se calibra de manera interna sin que intervenga ningún usuario. La curva estándar está diseñada para que se ajuste automáticamente basándose en las características únicas del paciente o suero de control. Los valores del calibrador se asignan de acuerdo con los estándares internos de ZEUS, que son específicos del lote y están codificados en el CD de calibración del lote.
   b. Límite de referencia analitos: Cada analito del sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus de ZEUS tiene un límite de referencia asignado. ZEUS determina los límites de referencia para cada lote de sistema de pruebas, y están codificados en el CD de calibración del lote.
   c. Con la tecnología *Intra-Well Calibration Technology*, todos los cálculos se realizan automáticamente cuando se utiliza el sistema **AtheNA Multi-Lyte**. La tecnología *Intra-Well Calibration Technology* ejecuta un análisis de regresión de las normativas internas, y a continuación ajusta los valores de unidad calculados basándose en una normativa adicional y en las características de la muestra de suero.
2. **Interpretaciones**
   a. **Determinación de corte:** El corte de este ensayo se configuró originalmente en contraposición con un panel de muestras negativas. Cada lote de kits se han probado mediante un panel de muestras caracterizadas, y los valores indicados están normalizados utilizando el CD de calibración específico de cada lote.
   b. **Interpretación de los analitos del sarampión, de las paperas y del VZV**: Los valores unitarios de las muestras de los analitos se interpretan de la siguiente manera:

i. Un resultado de <100 AU/mL con el **AtheNA Multi-Lyte** indica que no hay anticuerpos de tipo IgG detectables ante el virus del sarampión de las paperas o el VZV, comunicados como no reactivos para anticuerpos de tipo IgG.
ii. Un resultado de >120 AU/mL con el **AtheNA Multi-Lyte** es presuntamente positivo en anticuerpos IgG ante sarampión, paperas o VZV. Un resultado de prueba positivo presume una infección en curso o una infección pasada, o una inmunización anterior al virus del sarampión, de las paperas o al VZV; debe comunicarse como presuntamente positivo en anticuerpos IgG.
iii. Vuelva a analizar por duplicado las muestras con resultados **AtheNA Multi-Lyte** comprendidos en el intervalo dudoso (100 - 120 AU/mL). Repita la prueba de las muestras dudosas utilizando un procedimiento serológico alternativo, como el procedimiento de prueba ELISA de ZEUS. Además, vuelva a evaluar las muestras dudosas repetidas obteniendo otra muestra de una a tres semanas más tarde.
iv. En caso de que exista demasiada actividad en la microesfera NSC (control no específico), *Intra-Well Calibration Technology* anulará esa muestra en particular.
v. El valor numérico del resultado final por encima del corte no es indicativo de la cantidad de anticuerpos anti-IgG presentes. Puede que no se determinen incrementos de anticuerpos significantes entre las muestras agudas y convalecientes.
vi. Un resultado de prueba negativo no es un obstáculo para la inmunidad a la infección por virus de sarampión, paperas o VZV. En algunos pacientes, los niveles de anticuerpos IgG pueden caer por debajo de los límites de detección de este ensayo.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. El sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus de ZEUS es una herramienta para el diagnóstico, pero no es en sí una prueba diagnóstica. Los resultados de la prueba se deben interpretar junto con la evaluación clínica y los resultados de otros procedimientos diagnósticos.
2. No se han establecido las características de funcionamiento de este dispositivo con enfermedades asociadas a la sífilis.
3. No realice las pruebas como procedimiento de selección de individuos infectados entre la población general. El valor predictivo de un resultado positivo o negativo depende de la prevalencia del analito en una población de pacientes dada.
4. Las muestras hemolíticas, ictéricas o lipémicas pueden interferir en el resultado de este ensayo. Además, las muestras con concentraciones de anticuerpo IgG y RF anormales pueden interferir en el resultado de este ensayo. Evite el uso de estos tipos de muestras.
5. Los resultados de la prueba para pacientes inmunosuprimidos pueden ser difíciles de interpretar.
6. No se han establecido las características de funcionamiento de este dispositivo para otras matrices distintas del suero.
7. Las características de funcionamiento de este dispositivo no se han establecido con muestras que contiene anticuerpos heterófilos que se sabe que causan resultados falsos positivos en diversos inmunoensayos.
8. No se han establecido características de rendimiento con receptores de vacunas para determinar si el ensayo detectará una respuesta inmune a una vacuna.
9. Un resultado positivo individual sólo indica una exposición inmunológica anterior; el nivel de respuesta del anticuerpo o la clase de respuesta del anticuerpo no se puede utilizar para determinar la infección activa o la etapa de la enfermedad.
10. Las muestras obtenidas demasiado pronto en la evolución de una infección pueden no tener niveles detectables de IgG. En dichos casos, se puede obtener una segunda muestra después de dos a siete semanas y probarla concurrentemente con la muestra original para buscar la seroconversión.
11. Los resultados positivos de los pacientes que han recibido hemoderivados durante los seis meses anteriores pueden deberse a niveles de anticuerpos transitorios adquiridos durante la transfusión.
12. No se ha establecido el uso de sangre del cordón umbilical, la población neonata y los pacientes pretransplantados.

RESULTADOS ESPERADOS

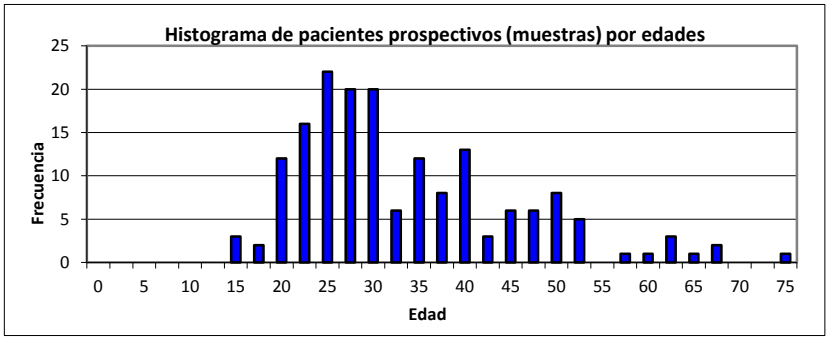
El estudio clínico de estos analitos incluyó un total de 177 muestras recogidas prospectivamente. Estas muestras se probaron en un laboratorio hospitalario centralizado del sudeste de los Estados Unidos y en un laboratorio de referencia en el Medio Oeste. De las 177 muestras probadas, 171 incluían la edad y el sexo del paciente. Los resultados de **AtheNA Multi-Lyte** para estas 171 muestras por grupo de edad y sexo se resumen en la siguiente tabla.

		AtheNA Multi-Lyte Plus analito sarampión				AtheNA Multi-Lyte Plus analito paperas				AtheNA Multi-Lyte Plus analito VZV			
Edad	**Sexo**	**Positivo**	**Negativo**	**Dudoso**	**No válido**	**Positivo**	**Negativo**	**Dudoso**	**No válido**	**Positivo**	**Negativo**	**Dudoso**	**No válido**
1 - 9	Masculino	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Femenino	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10 – 19	Masculino	5	0	0	0	6	1	0	0	2	4	0	0
	Femenino	5	1	1	0	4	0	1	0	3	3	0	0
20 - 29	Masculino	17	2	2	0	15	0	3	1	18	0	1	1
	Femenino	36	13	6	1	45	10	3	0	45	11	2	0
30 – 39	Masculino	1	1	2	0	3	0	1	0	4	0	0	0
	Femenino	22	10	3	0	23	12	1	0	31	4	1	0
40 – 49	Masculino	1	3	0	0	1	0	1	0	4	0	0	0
	Femenino	18	0	2	0	21	2	0	0	20	0	0	0
50 - 59	Masculino	4	0	0	0	2	0	0	0	3	1	0	0
	Femenino	4	2	0	0	7	0	1	0	5	1	0	0
60 - 69	Masculino	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Femenino	6	0	0	0	6	0	0	0	4	1	1	0
70+	Masculino	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Femenino	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
Total	Masculino	28	6	4	0	27	1	5	1	31	5	1	1
	Femenino	94	26	12	1	107	24	6	0	109	20	4	0
	Total	171	32	16	1	134	25	11	1	140	25	5	1

Con la excepción con las edades que faltan en cuatro de las 177 muestras y los sexos que faltan en dos de las 177, todas las muestras prospectivas (n = 171) se suministraron con la edad y sexo del individuo del cual se obtuvo la muestra. En la tabla de abajo aparece un resumen de la información demográfica:

Estadística	**Mujeres**	**Hombres**	**Población total**
Tamaño de la muestra	133	38	171
Edad media	33,4	29,3	32,5
Edad mediana	30	26,5	28
Edad mínima	15	14	14
Edad máxima	73	52	73

Abajo aparece un histograma de la frecuencia de edad de las 171 muestras de las cuales había datos.



CARACTERÍSTICAS DE COMPORTAMIENTO

1. **Analito sarampión**
   a. Se llevó a cabo **un estudio comparativo** en el que se probaron 253 muestras. De las 253 muestras probadas, 177 eran muestras prospectivas y 76 eran muestras retrospectivas. Las muestras prospectivas se probaron en un laboratorio hospitalario centralizado del sudeste de los Estados Unidos y en un laboratorio de referencia en el Medio Oeste. Las 76 muestras retrospectivas incluían a 76 mujeres embarazadas con edades comprendidas entre los 18 y los 41 años. De las 76 mujeres embarazadas, 16/76 estaban en su primer trimestre de embarazo, 30/76 estaban en su segundo trimestre y 30/76 estaban en su tercer trimestre de embarazo. Las muestras se probaron usando el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus y el sistema de pruebas ELISA Measles IgG de ZEUS. Los resultados de este estudio comparativo se ilustran en las Tablas 1 - 5 siguientes:

Tabla 1: Muestras prospectivas laboratorio uno

		Resultados de sistema de pruebas ZEUS ELISA Measles IgG Test			
		Positivo	Negativo	Dudoso	Total
AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus Sistema de pruebas	Positivo	80	0	0	80
	Negativo	2	0	0	2
	Dudoso	5	0	0	5
	No válido	0	0	0	0
	Total	87	0	0	87
% de concordancia positiva = 80/82 = 95,3 %		Intervalo de confianza del 95 % – 90,9 a 99,8 %			
% de concordancia negativo = 0/0 = N/D		Intervalo de confianza del 95 % – N/D			
Concordancia general = 80/87 = 92,0 %		Intervalo de confianza del 95 % – 86,2 a 97,7 %			

Tabla 2: Muestras prospectivas laboratorio dos

		Resultados de sistema de pruebas ZEUS ELISA Measles IgG Test			
		Positivo	Negativo	Dudoso*	Total
AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus Sistema de pruebas	Positivo	48	0	0	48
	Negativo	12	17	4	33
	Dudoso*	4	2	2	8
	No válido**	1	0	0	1
	Total	65	19	6	90
% de concordancia positiva = 48/82 = 75,0%		Intervalo de confianza de 95 % – 64,4 a 85,6 %			
% de concordancia negativa = 17/19 = 89,5 %		Intervalo de confianza del 95 % – 75,7 a 103,3 %			
Concordancia general = 65/89 = 73,0 %		Intervalo de confianza del 95 % – 63,8 a 82,3 %			
*Las muestras AtheNA y ELISA con resultados dudosos se consideraron como muestras "sin concordancia".					
**Las muestras con resultados no válidos se excluyeron de los cálculos para la concordancia.					

Tabla 3: Muestras prospectivas laboratorios combinados

		Resultados de sistema de pruebas ZEUS ELISA Measles IgG Test			
		Positivo	Negativo	Dudoso*	Total
AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus Sistema de pruebas	Positivo	128	0	0	128
	Negativo	14	17	4	35
	Dudoso*	9	2	2	13
	No válido**	1	0	0	1
	Total	152	19	6	177
% de concordancia positiva = 128/155 = 82,6%		Intervalo de confianza del 95 % – 76,6 a 88,6 %			
% de concordancia negativa = 17/19 = 89,5 %		Intervalo de confianza del 95 % – 75,7 a 103,3 %			
Concordancia general = 145/176 = 82,4 %		Intervalo de confianza del 95 % – 76,8 a 88,0 %			
*Las muestras AtheNA y ELISA con resultados dudosos se consideraron como muestras "sin concordancia".					
**Las muestras con resultados no válidos se excluyeron de los cálculos para la concordancia.					

Tabla 4: Muestras retrospectivas

		Resultados de sistema de pruebas ZEUS ELISA Measles IgG Test			
		Positivo	Negativo	Dudoso	Total
AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus Sistema de pruebas	Positivo	71	0	0	71
	Negativo	4	1	0	5
	Dudoso	0	0	0	0
	No válido	0	0	0	0
	Total	75	1	0	76
% de concordancia positiva = 71/75 = 94,7%		Intervalo de confianza del 95 % – 89,6 a 99,8 %			
% de concordancia negativa = 1/1 = 100,0 %		Intervalo de confianza del 95 % – 75,7 a 103,3 %			
Concordancia general = 72/76 = 94,7 %		Intervalo de confianza del 95 % – 89,7 a 99,8 %			

Tabla 5: Todas las muestras combinadas

		Resultados de sistema de pruebas ZEUS ELISA Measles IgG Test			
		Positivo	Negativo	Dudoso*	Total
AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus Sistema de pruebas	Positivo	199	0	0	199
	Negativo	18	18	4	40
	Dudoso*	9	2	2	13
	No válido**	1	0	0	1
	Total	227	20	6	253
% de concordancia positiva = 199/227 = 87,7%		Intervalo de confianza del 95 % – 83,4 a 91,9 %			
% de concordancia negativa = 18/20 = 90,0 %		Intervalo de confianza del 95 % – 76,9 a 103,1 %			
Concordancia general = 217/252 = 86,1 %		Intervalo de confianza del 95 % – 81,8 a 90,4 %			
*Las muestras AtheNA y ELISA con resultados dudosos se consideraron como muestras "sin concordancia".					
**Las muestras con resultados no válidos se excluyeron de los cálculos para la concordancia.					

b. Se evaluó la **precisión y la reproducibilidad del ensayo** en varios laboratorios como se explica a continuación: se identificaron seis muestras para usarlas en el estudio, basándose en su actividad en el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus. Se seleccionaron dos muestras que eran claramente negativas, dos que eran claramente positivas y dos que estaban cerca del corte o interrupción del ensayo. Este panel de seis muestras de suero se dividió en tres alícuotas cada uno y se probó en tres instalaciones clínicas diferentes. Cada día de la prueba, se diluyó cada muestra dos veces y a continuación cada disolución se paso por el ensayo, lo que resultó en ocho resultados por ensayo. Esto se realizó durante tres días en cada instalación hospitalaria. El resumen del estudio de precisión aparece en la Tabla 6.

Tabla 6: Precisión sarampión

		Intraensayo									**Interensayos**			**Entre laboratorios**
		Laboratorio uno			Laboratorio dos			Laboratorio tres						
Muestra		Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Laboratorio uno	Laboratorio dos	Laboratorio tres	
1	VI	324,5	319,5	311,5	343,8	356,8	323,3	359,3	351,1	352,0	318,5	341,3	354,1	338
	DE	29,7	12,0	16,4	19,8	20,5	19,1	14,8	23,0	16,4	20,6	23,6	18,0	25,4
	% CV	9,2	3,7	5,3	5,8	5,8	5,9	4,1	6,5	4,7	6,5	6,9	5,1	7,5
2	VI	153,1	152,5	144,0	167,8	154,4	141,9	186,1	185,4	177,0	149,9	154,7	182,8	162,5
	DE	5,6	14,7	10,7	8,5	4,8	9,9	15,9	15,5	9,8	11,3	13,2	14,1	19,4
	% CV	3,6	9,7	7,5	5,1	3,1	7,0	8,6	8,4	5,6	7,6	8,6	7,7	11,9
3	VI	479,1	472,5	464,0	481,0	492,3	468,4	538,5	541,4	530,3	471,9	48,5	536,7	496,4
	DE	26,0	23,7	25,2	92,2	29,6	17,2	44,3	54,8	33,2	24,7	55,2	43,2	51,3
	% CV	5,4	5,0	5,4	19,2	6,0	3,7	8,2	10,1	6,3	5,2	11,5	8,1	10,3
4	VI	59,0	51,3	47,9	53,9	61,1	41,3	77,3	77,8	76,1	52,7	52,1	77,0	60,6
	DE	6,4	4,5	4,7	6,0	3,9	7,0	4,2	6,0	3,8	6,9	10,1	4,6	13,9
	% CV	10,8	8,7	9,8	11,1	6,5	17,1	5,4	7,7	5,0	13,1	19,3	6,0	22,9
5	VI	29,6	20,4	22,8	29,6	38,0	20,1	57,8	48,3	50,4	24,3	29,3	52,1	35,2
	DE	7,5	4,5	6,4	7,5	6,6	6,4	19,1	5,0	4,3	7,2	9,9	11,9	15,6
	% CV	25,4	22,3	28,1	25,3	17,3	32,0	33,0	10,4	8,5	29,7	33,9	22,8	44,4
6	VI	141,8	126,9	121,0	138,8	149,4	135,8	172,1	169,8	172,6	129,9	141,3	171,5	147,6
	DE	6,5	46,8	9,5	10,2	10,3	16,2	6,5	11,4	8,8	28,0	13,4	8,8	25,5
	% CV	4,6	36,9	7,8	7,3	6,9	12,0	3,8	6,7	5,1	21,6	9,5	5,1	17,3

c. Se llevó a cabo una prueba de **reactividad cruzada** en la que se utilizaron siete muestras de suero que resultaron negativas en el sistema de pruebas AtheNA Multi-Lyte® MMV IgG Plus y que se probaron posteriormente con pruebas ELISA comercializadas para determinar la actividad respecto a VHS-1, VHS-2, Toxo, CMV, antígeno nuclear EBV, EBV EA IgG y antígeno cápsido viral EBV. Cinco de las siete muestras resultaron positivas para uno o más de los marcadores virales probados. Los resultados de este estudio se ilustran en la Tabla 7.

Tabla 7: Reactividad cruzada sarampión

	Resultados AtheNA Multi-Lyte	**Resultado de ELISA**						
Muestra		CMV	VHS-1	VHS-2	Toxoplasma	ANEB	EBV-EA IgG	VEB
CN 18	45	0,10	5,46	1,22	0,01	6,44	0,18	5,89
CN 126	96	1,83	0,38	0,21	0,03	0,08	0,63	2,15
CN 140	50	1,88	1,06	0,16	0,00	3,14	0,20	0,82
CN 141	81	2,41	3,08	0,62	0,05	5,46	0,24	2,97
CN 144	70	1,75	0,87	0,14	0,02	2,00	0,21	0,92
CN 146	42	1,92	1,31	0,36	0,05	3,83	0,84	1,42
CN 149	25	1,52	0,38	0,22	0,04	6,58	0,39	1,33

d. Se realizó un estudio de **sustancias interferentes** para determinar los efectos potenciales de sustancias interferentes que se pueden encontrar en muestras de suero. Las siguientes sustancias potencialmente interferentes se añadieron en las muestras de suero en los niveles indicados en la tabla 8.

Tabla 8: Niveles de sustancias interferentes sarampión

Substancia	Adición baja	Adición alta
Bilirrubina	1,9mg/dL	3,8mg/dL
Albumina humana	5,5g/dL	11g/dL
IgG humano	1,8g/dL	3,6g/dL
Colesterol	200mg/dL	400mg/dL
Triglicéridos	150mg/dL	300mg/dL
Hemoglobina	180g/dL	360g/dL
Intralípidos	3,5mg/dL	7,0mg/dL

Es necesario indicar que los niveles de adición bajos y altos se sumaban al nivel de línea base de estos materiales que podrían haber estado presentes en los sueros originales. No se detectaron los niveles en los sueros originales. Para este estudio, se evaluaron tres sueros en presencia de cada una de las substancias que se mencionan arriba. Una muestra resultó claramente positiva para IgG sarampión, una era fronteriza y una era claramente negativa para IgG. Los resultados de las muestras de control y el suero con adición alta y baja se presentan en la Tabla 9:

Tabla 9: Resultados sustancias interferentes sarampión

		Muestra uno		Muestra dos		Muestra 3	
Sustancia interferente	**Nivel cargado**	**Sarampión Positivo**	**% recuperación de la señal positiva**	**Dudoso sarampión**	**% recuperación de la señal positiva**	**Sarampión Negativo**	**% recuperación de la señal positiva**
Ninguna (control)	N/D	382	N/D	102	N/D	24	N/D
Bilirrubina	Bajo	426	111,5	130	127,5	25	104,2
Bilirrubina	Alta	415	108,6	109	106,9	22	91,7
Albúmina	Bajo	453	118,6	100	98,0	26	108,3
Albúmina	Alto	440	115,2	103	101,0	24	100,0
IgG	Bajo	477	124,9	297	291,2	328	1366,7
IgG	Alto	545	142,7	359	352,0	365	1520,8
Colesterol	Bajo	424	111,0	107	104,9	22	91,7
Colesterol	Alto	414	108,4	115	112,7	27	112,5
Triglicéridos	Bajo	403	105,5	112	109,8	23	95,8
Triglicéridos	Alto	388	101,6	110	107,8	28	116,7
Hemoglobina	Bajo	388	101,6	102	100,0	27	112,5
Hemoglobina	Alto	372	97,4	95	93,1	16	66,7
Intralípidos	Bajo	389	101,8	121	118,6	29	120,8
Intralípidos	Alto	616	161,3	106	103,9	25	104,2

La muestra positiva mostró un rango de recuperación desde 161,3 % con la alta adición de intralípido hasta un punto bajo de 97,4 % con alta adición de hemoglobina. La adición del IgG purificado también provocó un aumento importante en la señal, ya que es probable que el IgG humano purificado que se utiliza para añadir la muestra daba positivo para los anticuerpos IgG antisarampión. En todos los casos, el resultado cualitativo de la muestra positiva permaneció sin cambios. La muestra negativa mostró un rango de recuperación desde 1520,8 % con la alta adición de IgG hasta un punto bajo de 66,7 % con alta adición de hemoglobina. Con la excepción de la adición de IgG humano purificado, el resultado cualitativo de la muestra no resultó afectado por estas substancias. Finalmente, la muestra fronteriza mostró un rango de recuperación desde 352 % con la alta adición de IgG humano purificado hasta un punto bajo de 93,1 % con alta adición de hemoglobina. Se puede concluir que todas las substancias probadas mostraron algún nivel de interferencia con la detección de anticuerpos antisarampión en el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus dependiendo de la identidad del interferente y del nivel probado (consultar arriba). Las muestras que son hemolíticos, ictéricos, lipémicos o que contienen niveles elevados de IgG no se deben probar con el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus.

2. **Analito paperas**

a. Se llevó a cabo **un estudio comparativo** en el que se probaron 253 muestras. De las 253 muestras probadas, 177 eran muestras prospectivas y 76 eran muestras retrospectivas. Las muestras prospectivas se probaron en un laboratorio hospitalario centralizado del sudeste de los Estados Unidos y en un laboratorio de referencia en el Medio Oeste. Consultar la sección Resultados esperados para obtener la distribución demográfica de estas muestras. Las muestras retrospectivas incluían a 76 mujeres embarazadas con edades comprendidas entre los 18 y los 41 años. De las 76 mujeres embarazadas, 16/76 estaban en su primer trimestre de embarazo, 30/76 estaban en su segundo trimestre y 30/76 estaban en su tercer trimestre de embarazo. Las muestras se probaron con el sistema de pruebas AtheNA Multi-Lyte® MMV IgG Plus y con un sistema de pruebas Mumps IgG de referencia (el sistema de pruebas Mumps IgG ELISA de ZEUS o el sistema de pruebas Bion Mumps IgG IFA). Los resultados de este estudio comparativo se ilustran en las Tablas 10 - 14 siguientes:

Tabla 10: Muestras prospectivas laboratorio uno

		Resultados sistema de pruebas Mumps IgG ELISA de ZEUS			
		Positivo	Negativo	Dudoso*	Total
AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus Sistema de pruebas	Positivo	84	0	0	84
	Negativo	0	0	0	0
	Dudoso*	3	0	0	3
	No válido	0	0	0	0
	Total	87	0	0	87
% de concordancia positiva = 84/87 = 96,6%			Intervalo de confianza del 95 % – 92,7 a 100,4 %		
% de concordancia negativo = 0/0 = N/D			Intervalo de confianza del 95 % – N/D		
Concordancia general = 84/87 = 96,6 %			Intervalo de confianza del 95 % – 92,7 a 100,4 %		
*Las muestras AtheNA con resultados dudosos se consideraron como muestras "sin concordancia".					

Tabla 11: Muestras prospectivas laboratorio dos

		Resultados Bion Mumps IgG IFA			
		Positivo	Negativo	Dudoso*	Total
AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus Sistema de pruebas	Positivo	58	0	0	58
	Negativo	15	9	0	24
	Dudoso*	9	0	0	9
	No válido**	0	1	0	1
	Total	82	10	0	92
% de concordancia positiva = 58/82 = 70,7%			Intervalo de confianza del 95 % – 60,9 a 80,6 %		
% de concordancia negativa = 9/9 = 100,0 %			Intervalo de confianza del 95 % – 100,0 a 100,0 %		
Concordancia general = 67/91 = 73,6 %			Intervalo de confianza del 95 % – 64,6 a 82,7 %		
*Las muestras AtheNA con resultados dudosos se consideraron como muestras "sin concordancia".					
**Las muestras con resultados no válidos se excluyeron de los cálculos para la concordancia.					

Tabla 12: Muestras prospectivas laboratorios combinados

		Resultados prueba de referencia			
		Positivo	Negativo	Dudoso*	Total
AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus Sistema de pruebas	Positivo	140	0	0	140
	Negativo	15	9	0	24
	Dudoso*	12	0	0	12
	No válido**	0	1	0	1
	Total	167	10	0	177
% de concordancia positiva = 140/167 = 83,8%		Intervalo de confianza del 95 % – 78,2 a 89,4 %			
% de concordancia negativa = 9/9 = 100,0 %		Intervalo de confianza del 95 % – 100,0 a 100,0 %			
Concordancia general = 149/176 = 84,7 %		Intervalo de confianza del 95 % – 79,3 a 90,0 %			
*Las muestras AtheNA con resultados dudosos se consideraron como muestras "sin concordancia".					
**Las muestras con resultados no válidos se excluyeron de los cálculos para la concordancia.					

Tabla 13: Muestras retrospectivas

		Resultados Bion Mumps IgG IFA			
		Positivo	Negativo	Dudoso	Total
AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus Sistema de pruebas	Positivo	60	1	0	71
	Negativo	0	12	0	5
	Dudoso	0	2	1	0
	No válido	0	0	0	0
	Total	60	15	0	76
% de concordancia positiva = 60/76 = 78,9%		Intervalo de confianza del 95 % – 69,8 a 88,1 %			
% de concordancia negativa = 12/15 = 80,0 %		Intervalo de confianza del 95 % – 59,8 a 100,2 %			
Concordancia general = 72/76 = 94,7 %		Intervalo de confianza del 95 % – 89,7 a 99,8 %			
*Las muestras AtheNA e IFA con resultados dudosos se consideraron como muestras "sin concordancia".					

Tabla 14: Todas las muestras combinadas

		Resultados prueba de referencia			
		Positivo	Negativo	Dudoso*	Total
AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus Sistema de pruebas	Positivo	200	1	0	201
	Negativo	15	21	0	36
	Dudoso*	12	2	1	15
	No válido**	0	1	0	1
	Total	227	25	1	253
% de concordancia positiva = 200/227 = 88,1%		Intervalo de confianza del 95 % – 83,9 a 92,3 %			
% de concordancia negativa = 21/24 = 87,5 %		Intervalo de confianza del 95 % – 74,3 a 100,7 %			
Concordancia general = 221/252 = 87,7 %		Intervalo de confianza del 95 % – 83,8 a 91,8 %			
*Las muestras AtheNA, ELISA e IFA con resultados dudosos se consideraron como muestras "sin concordancia".					
**Las muestras con resultados no válidos se excluyeron de los cálculos para la concordancia.					

b. Se llevó a cabo **un estudio de precisión** en varios laboratorios como se explica a continuación: Se identificaron seis muestras para su uso en el estudio basándose en su actividad en el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus. Se seleccionaron dos muestras que eran claramente negativas, dos que eran claramente positivas y dos que estaban cerca del corte o interrupción del ensayo. Este panel de seis muestras de suero se dividió en tres alícuotas cada uno y se probó en tres instalaciones clínicas diferentes. Cada día de la prueba, se diluyó cada muestra dos veces y a continuación cada disolución se paso por el ensayo, lo que resultó en ocho resultados por ensayo. Esto se realizó durante tres días en cada instalación hospitalaria. El resumen del estudio de precisión aparece en la Tabla 15.

Tabla 15: Precisión paperas

		Intraensayo									**Interensayos**			**Entre laboratorios**
		Laboratorio uno			Laboratorio dos			Laboratorio tres						
Muestra		Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Laboratorio uno	Laboratorio dos	Laboratorio tres	
1	VI	287,4	233,1	253,6	258,4	280,5	259,5	287,4	277,8	282,1	258,0	266,1	282,4	268,9
	DE	14,3	12,0	12,9	15,0	19,5	14,1	14,3	20,8	13,6	26,1	18,8	16,3	22,9
	% CV	5,0	5,1	5,1	5,8	7,0	5,4	5,0	7,5	4,8	10,1	7,1	5,8	8,5
2	VI	361,4	314,8	315,9	351,6	336,0	305,1	361,4	373,1	357,5	330,7	330,9	364,0	341,9
	DE	11,7	16,1	23,8	11,1	18,1	21,6	11,7	22,9	10,8	28,0	25,9	16,8	38,5
	% CV	3,2	5,1	7,5	3,2	5,4	7,1	3,2	6,1	3,0	8,5	7,8	4,6	8,3
3	VI	55,9	33,8	34,3	39,5	41,3	32,4	55,9	53,0	57,3	41,3	37,7	55,4	44,8
	DE	5,1	2,3	2,8	3,0	4,8	7,9	5,1	3,4	3,5	11,1	6,6	4,3	10,9
	% CV	9,1	6,9	8,1	7,7	11,6	24,4	9,1	6,4	6,1	26,8	17,6	7,8	24,4
4	VI	64,9	30,9	40,4	40,8	46,0	35,1	64,9	60,0	63,4	45,4	40,6	62,8	49,6
	DE	3,6	6,6	6,7	3,0	4,7	2,4	3,6	6,1	3,6	15,6	5,6	4,9	13,7
	% CV	5,6	21,2	16,6	7,4	10,3	6,9	5,6	10,2	5,7	34,5	13,9	7,8	27,7
5	VI	183,4	151,6	138,0	143,8	163,3	150,6	183,4	179,6	184,1	157,7	152,5	182,4	164,2
	DE	8,6	9,5	8,3	15,9	8,6	14,8	8,6	7,9	5,1	21,2	15,3	7,3	20,3
	% CV	4,7	6,2	6,1	11,0	5,3	9,8	4,7	4,4	2,7	13,4	10,0	4,0	12,3
6	VI	128,5	94,3	88,1	116,9	117,1	92,3	128,5	125,6	138,3	103,6	108,8	130,8	114,4
	DE	5,9	8,0	15,9	6,5	3,9	8,5	5,9	13,3	9,9	20,9	13,5	11,2	19,5
	% CV	4,6	8,5	18,0	5,6	3,3	9,2	4,6	10,6	7,2	20,1	12,4	8,5	17,1

c. Se llevó a cabo un estudio de reactividad cruzada en el que se seleccionaron 10 muestras de suero que resultaron negativas en el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus y que se probaron posteriormente con pruebas ELISA comercializadas para determinar la actividad de los anticuerpos IgG con respecto a VHS-1, VHS-2, CMV, antígeno nuclear EBV, antígeno cápsido viral EBV y toxoplasma. Nueve de las diez muestras resultaron positivas para uno o más de los marcadores virales probados. Los resultados de este estudio se ilustran en la Tabla 16.

Tabla 16: Reactividad cruzada paperas

Muestra	Resultados AtheNA Multi-Lyte	Resultado de ELISA					
		CMV	VHS-1	VHS-2	ANEB	EBV-EA IgG	VEB
CN 18	27	0,10	5,46	1,22	6,44	0,18	5,89
CN 35	70	7,96	6,96	4,69	8,75	0,50	4,79
CN 70	77	0,28	7,45	2,42	8,25	0,25	4,78
CN 77	37	2,82	5,26	2,94	1,95	0,24	3,82
CN 122	54	1,30	0,25	0,13	0,00	0,72	0,70
CN 140	27	1,88	1,06	0,16	3,14	0,20	0,82
CN 141	93	2,41	3,08	0,62	5,46	0,24	2,97
CN 144	35	1,75	0,87	0,14	2,00	0,21	0,92
CN 146	31	1,92	1,31	0,36	3,83	0,84	1,42
CN 149	77	1,52	0,38	0,22	6,58	0,39	1,33

d. Se realizó un estudio de **sustancias interferentes** para determinar los efectos potenciales de sustancias interferentes que se pueden encontrar en muestras de suero. Las siguientes substancias potencialmente interferentes se añadieron a las muestras de suero en los niveles indicados:

Tabla 17: Niveles de sustancias interferentes paperas

Substancia	Adición baja	Adición alta
Bilirrubina	1,9mg/dL	3,8mg/dL
Albumina humana	5,5g/dL	11g/dL
IgG humano	1,8g/dL	3,6g/dL
Colesterol	200mg/dL	400mg/dL
Triglicéridos	150mg/dL	300mg/dL
Hemoglobina	180g/dL	360g/dL
Intralípidos	3,5mg/dL	7,0mg/dL

Es necesario indicar que los niveles de adición bajos y altos se sumaban al nivel de línea base de estos materiales que podrían haber estado presentes en los sueros originales. No se detectaron los niveles en los sueros originales. Para este estudio, se evaluaron tres sueros en presencia de cada una de las substancias que se mencionan arriba. Una muestra resultó claramente positiva para el IgG de las paperas, una era fronteriza y una era claramente negativa para el IgG de las paperas. Los resultados de las muestras de control y el suero con adición alta y baja se presentan en la Tabla 18.

Tabla 18: Sustancias interferentes paperas

Sustancia interferente	Nivel cargado	Muestra uno		Muestra dos		Muestra 3	
		Paperas Positivo	% recuperación de la señal positiva	Dudoso paperas	% recuperación de la señal positiva	Paperas Negativo	% recuperación de la señal positiva
Ninguna (control)	N/D	245	N/D	89	N/D	60	N/D
Bilirrubina	Bajo	276	112,7	123	138,2	59	98,3
Bilirrubina	Alta	253	103,3	94	105,6	60	100,0
Albúmina	Bajo	261	106,5	97	109,0	61	101,7
Albúmina	Alto	249	101,6	89	100,0	55	91,7
IgG	Bajo	376	153,5	379	425,8	367	611,7
IgG	Alto	415	169,4	388	436,0	437	728,3
Colesterol	Bajo	264	107,8	97	109,0	63	105,0
Colesterol	Alto	2268	109,4	103	115,7	68	113,3
Triglicéridos	Bajo	253	103,3	102	114,6	58	96,7
Triglicéridos	Alto	248	101,2	94	105,6	60	100,0
Hemoglobina	Bajo	231	94,3	99	111,2	60	100,0
Hemoglobina	Alto	229	93,5	95	106,7	52	86,7
Intralípidos	Bajo	250	102,0	103	115,7	68	113,3
Intralípidos	Alto	379	154,7	103	115,7	59	98,3

La muestra positiva mostró un rango de recuperación desde 169,4 % con la alta adición de IgG hasta un punto bajo de 93,5 % con alta adición de hemoglobina. La adición del IgG purificado también provocó un aumento importante en la señal, ya que es probable que el IgG humano purificado que se utiliza para añadir la muestra daba positivo para los anticuerpos IgG anti- paperas. En todos los casos, el resultado cualitativo de la muestra positiva permaneció sin cambios. La muestra negativa mostró un rango de recuperación desde 728,3 % con la alta adición de IgG hasta un punto bajo de 91,7 % con alta adición de albumina. Con la excepción de la adición de IgG humano purificado, el resultado cualitativo de la muestra no resultó afectado por estas substancias. Finalmente, la muestra fronteriza mostró un rango de recuperación desde 436 % con la alta adición de IgG humano purificado hasta un punto bajo de 100 % con alta adición de albumina. Se puede concluir que todas las substancias probadas mostraron algún nivel de interferencia con la detección de anticuerpos anti-paperas en el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus dependiendo de la identidad del interferente y del nivel probado (consultar arriba). Las muestras que son hemolíticos, ictéricos, lipémicos o que contienen niveles elevados de IgG no se deben probar con el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus.

3. **Analito VZV**

a. Se llevó a cabo **un estudio comparativo** en el que se probaron un total de 272 muestras. De las 272 muestras probadas, 177 eran muestras prospectivas y 95 eran muestras retrospectivas. Las muestras prospectivas se probaron en un laboratorio hospitalario centralizado del sudeste de los Estados Unidos y en un laboratorio de referencia en el Medio Oeste. Consultar la sección Resultados esperados para obtener la distribución demográfica de estas muestras. Las 95 muestras retrospectivas incluían a 19 niños con edades comprendidas entre los uno y los 12 años y 76 mujeres embarazadas con edades comprendidas entre los 18 a los 41 años. De las 76 mujeres embarazadas, 16/76 estaban en su primer trimestre de embarazo, 30/76 estaban en su segundo trimestre y 30/76 estaban en su tercer trimestre de embarazo. Las muestras se probaron usando el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus y el sistema de pruebas ELISA VZV IgG de ZEUS. Los resultados de este estudio comparativo se ilustran en las Tablas 19 - 22 siguientes:

Tabla 19: Muestras prospectivas laboratorio uno

		Resultados del sistema de pruebas ELISA VZV IgG de ZEUS			
		Positivo	Negativo	Dudoso*	Total
AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus Sistema de pruebas	Positivo	83	0	0	83
	Negativo	1	0	0	1
	Dudoso*	3	0	0	3
	No válido	0	0	0	0
	Total	87	0	0	87
% de concordancia positiva = 83/87 = 95,4%			Intervalo de confianza del 95 % – 88,6 a 98,7 %		
% de concordancia negativo = 0/0 = N/D			Intervalo de confianza del 95 % – N/D		
Concordancia general = 83/87 = 95,4 %			Intervalo de confianza del 95 % – 88,6 a 98,7 %		
*Las muestras AtheNA con resultados dudosos se consideraron como muestras "sin concordancia".					

Tabla 20: Muestras prospectivas laboratorio dos

		Resultados del sistema de pruebas ELISA VZV IgG de ZEUS			
		Positivo	Negativo	Dudoso*	Total
AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus Sistema de pruebas	Positivo	61	0	2	63
	Negativo	5	16	3	24
	Dudoso*	2	0	0	2
	No válido**	0	1	0	1
	Total	68	17	5	90
% de concordancia positiva = 61/71 = 85,9%		Intervalo de confianza del 95 % – 75,6 a 93,0 %			
% de concordancia negativa = 16/18 = 88,9%		Intervalo de confianza del 95 % – 65,3 a 98,6 %			
Concordancia general = 77/89 = 86,5%		Intervalo de confianza del 95 % – 77,6 a 92,8 %			
*Las muestras AtheNA y ELISA con resultados dudosos se consideraron como muestras "sin concordancia".					
**Las muestras con resultados no válidos se excluyeron de los cálculos para la concordancia.					

Tabla 21: Muestras prospectivas laboratorios combinados

		Resultados del sistema de pruebas ELISA VZV IgG de ZEUS			
		Positivo	Negativo	Dudoso*	Total
AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus Sistema de pruebas	Positivo	144	0	2	146
	Negativo	6	16	3	25
	Dudoso*	5	0	0	5
	No válido**	0	1	0	1
	Total	155	17	5	177
% de concordancia positiva = 140/158 = 91,9%		Intervalo de confianza del 95 % – 85,6 a 95,1 %			
% de concordancia negativa = 16/18 = 88,9 %		Intervalo de confianza del 95 % – 65,3 a 98,6 %			
Concordancia general = 160/176 = 90,9 %		Intervalo de confianza del 95 % – 85,7 a 94,7 %			
*Las muestras AtheNA y ELISA con resultados dudosos se consideraron como muestras "sin concordancia".					
**Las muestras con resultados no válidos se excluyeron de los cálculos para la concordancia.					

Tabla 22: Muestras retrospectivas

		Resultados del sistema de pruebas ELISA VZV IgG de ZEUS			
		Positivo	Negativo	Dudoso	Total
AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus Sistema de pruebas	Positivo	72	0	0	72
	Negativo	5	12	2	19
	Dudoso	3	0	0	3
	No válido	1	0	0	1
	Total	81	12	2	95
% de concordancia positiva = 72/80 = 90,0%		Intervalo de confianza del 95 % – 83,4 a 96,6 %			
% de concordancia negativa = 12/12 = 100,0 %		Intervalo de confianza del 95 % – 73,5 a 100,0 %			
Concordancia general = 84/94 = 89,4 %		Intervalo de confianza del 95 % – 81,3 a 94,8 %			
*Las muestras AtheNA y ELISA con resultados dudosos se consideraron como muestras "sin concordancia".					
**Las muestras con resultados no válidos se excluyeron de los cálculos para la concordancia.					

b. Se evaluó un **ensayo de precisión** en varios laboratorios, como sigue: se identificaron seis muestras para el estudio basándose en su actividad en el ensayo AtheNA. Se seleccionaron dos muestras que eran claramente negativas, dos que eran claramente positivas y dos que estaban cerca del corte o interrupción del ensayo. Este panel de seis muestras de suero se dividió en tres alícuotas cada uno y se probó en tres instalaciones clínicas diferentes. Cada día de la prueba, se diluyó cada muestra dos veces y a continuación cada disolución se paso por el ensayo, lo que resultó en ocho resultados por ensayo. Esto se realizó durante tres días en cada instalación hospitalaria. El resumen del estudio de precisión aparece en la Tabla 23.

Tabla 23: Precisión VZV

		Intraensayo									**Interensayos**			**Entre laboratorios**
		Laboratorio uno			Laboratorio dos			Laboratorio tres						
Muestra		Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	Laboratorio uno	Laboratorio dos	Laboratorio tres	
1	VI	318			311			334			318	311	334	321
	DE	15,48	16,69	24,48	17,20	16,53	13,29	16,81	23,42	10,94	27,75	20,22	17,57	23,96
	% CV	4,9	4,8	8,3	5,5	5,6	4,3	5,0	7,1	3,3	8,7	6,5	5,3	7,5
2	VI	264			262			290			264	262	290	272
	DE	15,59	8,87	9,65	14,66	21,63	22,41	19,04	26,10	15,33	14,38	19,59	21,06	22,29
	% CV	5,9	3,2	3,8	5,5	8,3	8,7	6,5	8,8	5,5	5,4	7,5	7,3	8,2
3	VI	25			25			35			25	25	35	28
	DE	1,64	2,07	2,98	3,11	2,56	2,43	1,41	2,07	1,93	3,14	3,06	1,85	5,53
	% CV	6,5	7,5	13,5	11,4	11,0	9,5	4,0	6,0	5,4	12,7	12,0	5,3	19,4
4	VI	13			11			21			13	11	21	15
	DE	1,77	2,53	0,99	2,23	1,55	1,07	1,69	1,28	0,74	2,46	2,65	1,37	4,74
	% CV	14,3	17,0	9,1	15,8	17,0	9,7	7,8	6,3	3,6	19,3	23,2	6,6	31,6
5	VI	105			102			101			105	102	101	103
	DE	5,36	2,88	12,98	4,29	4,53	4,61	2,83	8,27	8,55	10,41	7,95	6,93	8,60
	% CV	5,3	2,5	12,9	4,7	4,5	4,8	2,8	8,3	8,3	9,9	7,8	6,8	8,4
6	VI	88			89			128			88	89	128	102
	DE	3,81	4,33	7,86	15,63	4,54	19,40	6,63	6,10	7,03	9,20	14,22	6,37	21,36
	% CV	4,3	4,5	10,00	17,3	5,3	21,5	5,2	4,7	5,6	10,5	16,0	5,0	21,0

c. Se llevaron a cabo **dos estudios separados de reactividad cruzada** para evaluar la posible reactividad cruzada con otros virus. En el primer estudio, se seleccionaron 15 muestras de suero que resultaron negativas en el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus y se probaron posteriormente con el sistema de pruebas comercializado ELISAS para determinar su actividad ante las paperas, el sarampión y la rubeola. De las 15 muestras, dos resultaron negativas en las tres pruebas ELISA, pero 13/15 resultaron IgG positivas para uno o más de los tres virus. En el segundo estudio, se seleccionaron 16 muestras de suero que resultaron negativas al anticuerpo IgG VZV tanto de acuerdo con una prueba ELISA disponible comercialmente como por AtheNA. Estas muestras se probaron a continuación mediante pruebas ELISA disponibles comercialmente para determinar la presencia de anticuerpos IgG del VHS-1, CMV, Hepatitis B, antígeno nuclear EBV y antígeno cápsido viral EBV. Las 16 muestras resultaron positivas para uno o más de los marcadores virales probados. Los resultados de estos dos estudios se ilustran en las tablas 24 y 25:

Tabla 24: Estudio de reactividad cruzada VZV uno

Muestra	Resultados AtheNA Multi-Lyte	Resultado de ELISA		
		IgG antisarampión	IgG antipaperas	IgG antirubeola
1	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
2	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
3	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
4	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo
5	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
6	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
7	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
8	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
9	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
10	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
11	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
12	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
13	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo
14	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
15	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Tabla 25: Estudio de reactividad cruzada VZV dos

Muestra	Resultados AtheNA Multi-Lyte	Resultado de ELISA					
		ANEB	VEB-VCA	CMV	VHS-1	VHS-2	Hepatitis Ab
1	Negativo	Sin probar	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
2	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
3	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo
4	Negativo	Sin probar	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
5	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Dudoso	Negativo
6	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo
7	Negativo	Negativo	Dudoso	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
8	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Dudoso	Negativo
9	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo
10	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
11	Negativo	Sin probar	Positivo	Positivo	Dudoso	Negativo	Negativo
12	Negativo	Sin probar	Positivo	Positivo	Dudoso	Negativo	Negativo
13	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
14	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo
15	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
16	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo

d. Se realizó un **estudio de sustancias interferentes** para determinar los efectos potenciales de sustancias interferentes que se pueden encontrar en muestras de suero. La tabla 26 resume los niveles de sustancias potencialmente interferentes que se añadieron a las muestras de suero. Es necesario indicar que los niveles de adición bajos y altos se sumaban al nivel de línea base de estos materiales que podrían haber estado presentes en los sueros originales. No se detectaron los niveles en los sueros originales.

Tabla 26: Niveles de sustancias interferentes VZV

Substancia	Adición baja	Adición baja
Bilirrubina	1,9mg/dL	3,8mg/dL
Albumina humana	5,5g/dL	11g/dL
IgG humano	1,8g/dL	3,6g/dL
Colesterol	200mg/dL	400mg/dL
Triglicéridos	150mg/dL	300mg/dL
Hemoglobina	180g/dL	360g/dL
Intralípidos	3,5mg/dL	7,0mg/dL

Para este estudio, se evaluaron tres sueros en presencia de cada una de las substancias que se mencionan arriba. Una muestra resultó claramente positiva para IgG VZV sarampión, una era fronterizo y una era claramente negativa para IgG VZV. Los resultados de las muestras de control y el suero con adición alta y baja se presentan en la Tabla 27.

Tabla 27: Sustancias interferentes VZV

Sustancia interferente	Nivel cargado	Muestra uno		Muestra dos		Muestra 3	
		IgG antiVZV Positivo	% recuperación de la señal positiva	IgG antiVZV Dudoso	% recuperación de la señal positiva	IgG antiVZV Negativo	% recuperación de la señal positiva
Ninguna (control)	N/D	177	N/D	114	N/D	25	N/D
Bilirrubina	Bajo	155	87,6	117	102,6	50	200,0
Bilirrubina	Alta	127	71,8	95	83,3	48	192,0
Albúmina	Bajo	163	92,1	111	97,4	55	220,0
Albúmina	Alto	126	71,2	1117	102,6	62	248,0
IgG	Bajo	300	169,5	295	258,8	344	1376,0
IgG	Alto	446	252,0	313	274,6	452	1808,0
Colesterol	Bajo	147	83,1	113	99,1	58	232,0
Colesterol	Alto	164	92,7	115	100,9	57	228,0
Triglicéridos	Bajo	137	77,4	99	86,8	52	208,0
Triglicéridos	Alto	142	80,2	88	77,2	46	184,0
Hemoglobina	Bajo	129	78,0	101	88,6	51	204,0
Hemoglobina	Alto	129	72,9	113	99,1	44	176,0
Intralípidos	Bajo	139	78,5	101	88,6	56	224,0
Intralípidos	Alto	163	92,1	99	86,8	51	244,0

La muestra positiva mostró un rango de recuperación desde 252 % con la alta adición de IgG hasta un punto bajo de 71,2 % con alta adición de albumina. La adición del IgG purificado también provocó un aumento importante en la señal, ya que es probable que el IgG humano purificado que se utiliza para añadir la muestra daba positivo para los anticuerpos IgG antiVZV. En todos los casos, el resultado cualitativo de la muestra positiva permaneció sin cambios. La muestra negativa mostró un rango de recuperación desde 1808 % con la alta adición de IgG hasta un punto bajo de 176 % con alta adición de hemoglobina. Con la excepción de la adición de IgG humano purificado, el resultado cualitativo de la muestra no resultó afectado por estas substancias. Finalmente, la muestra fronteriza mostró un rango de recuperación desde 274,5 % con la alta adición de IgG humano purificado hasta un punto bajo de 83,3 % con alta adición de bilirrubina. Se puede concluir que todas las substancias probadas mostraron algún nivel de interferencia con la detección de anticuerpos antiVZV en el ensayo AtheNA Plus dependiendo de la identidad del interferente y del nivel probado (consultar arriba). Las muestras que son hemolíticos, ictéricos, lipémicos o que contienen niveles elevados de IgG no se deben probar con el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus.

REFERENCIAS

1. Norrby E, and Oxman MN: Measles Virus. In: Virology, Fields BN and Knope DM (eds). 2nd Edition, Raven Press, Ltd., New York, 1013-1044, 1990.
2. Gershon AA, and Krugman S: Measles Virus. In: diagnostic Procedures for Viral, rickettsial, and Chlamydial Infections. Lennette EH and Schmidt NJ (eds), 5th Edition. American Public Health Association, Inc. 655-693, 1979.
3. Norrby E: Measles Virus. In: Manual of Clinical Microbiology. Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, and Shadomy HJ (eds), 4th Edition. American Society for Microbiology, Washington, DC. 769-773, 1985.
4. Norrby,E.: Mumps Virus, in: Manual of Clinical Microbiology, 4th ed., Lennette, E.H., A Balows, WJ Hausler, Jr., HJ Shadomy (eds). American Society for Microbiology, Washington, D.C. Pp 774-778, 1985.
5. Kleiman, MB: Mumps Virus Infections in: Laboratort Diagnosis of Viral Infections, Lennette. EH (ed). Marcel Dekker, Inc. New York, NY. Pp 369-383, 1985.
6. Hopp,HE and Parkman, PD: Mumps Virus, in: Diagnostic Procedure for Viral, Rickettsial and chlamydial Infections, 5th Ed. Lennette EH and Schmidt NH (eds). American Public Health Associaton, Washington,D.C. Pp 633-653, 1979.
7. Weller TH, Witton HM, Bell EJ. Exp. Med. 108:843, 1958
8. Weller TH, Coons AH: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 86:789, 1954
9. Weller TH: Viral Infections of Human: Epidemiology and Control. 2nd ed. NY: Pelnum 569-95, 1982
10. Kimura A, et al: Arch virusforsch 36: 1, 1972
11. Esiri M, Tomlinson AH: J. Neurol. Sci. 15:25, 1972
12. Oakes JE, Iltis JP Hyman RW, et al: Virology, 82:353, 1977
13. Richards JC, Human RW, Rapp F: J. Virol. 32:812, 1979
14. Fleisher G, Henry W, McSorley M, Arbeter A, Plotkin S: Am. J. Dis. Child. 135:869-9, 1981.
15. Preblud SR: Pediatrics 68:14-7, 1981.
16. Ojeda VJ, et al: ASCP 529-532 (Vol 81, No.4), April 1984.
17. The Harvard Medical School Health Center, Vol IX. No.8 “Shingles”. June, 1984.
18. Leclair JM, Zaia JA, Levin MJ: N. Engl. J. Med. 302:450, 1980.
19. Tyzzer EE: J. Med. Res. 14:361, 1960.
20. Stevens DA, Merigan TC: J. Infect. Dis. 509, 1975.
21. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. U.S. Government Printing Office, Washington D.C., 4th Ed., 1999.
22. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration; Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed.Register 56:64175-64182, 1991.
23. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids and Tissues; Approved Guideline. NCCLS Document M29, Vol.17(12), 1997.
24. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
25. Procedures for the collection and diagnostic blood specimens by venipuncture. 2nd edition. Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
26. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4th Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.

ZEUS Scientific

ZEUS Scientific, Inc.
200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, EE. UU.
Llamada gratuita (EE. UU.): 1-800-286-2111, opción 2
Internacional: +1 908-526-3744
Fax: +1 908-526-2058
Página Web: www.zeusscientific.com

AtheNA Multi-Lyte y SAVe Diluent® son marcas registradas de ZEUS Scientific, Inc.

Para consultas al Servicio de atención al cliente en EE.UU., contacte con su distribuidor local.
Para consultas al Soporte técnico, contacte con ZEUS Scientific, llame de forma gratuita o escriba a support@zeusscientific.com.
Para consultas al Servicio de atención al cliente y al Soporte técnico desde fuera de EE.UU., contacte con su distribuidor local.

© 2015 ZEUS Scientific, Inc. Todos los derechos reservados.

EC REP
EMERGO EUROPE
Molenstraat 15
2513 BH, The Hague
The Netherlands
Tel: +31 (0)70 345 8570
Fax: +31 (0)70 346 7299